

2012 年度 修士論文要旨

転写因子 E2F1 の新規相互作用因子の探索と解析

関西学院大学大学院理工学研究科
生命科学専攻 大谷研究室 栄 喬大

細胞は正常な増殖刺激を受けると細胞増殖を誘導するが、がん性変化によって異常な増殖刺激が生じるとアポトーシスや細胞老化を誘導し異常な細胞増殖を抑制することでがん化を抑制する。このように細胞には正常な増殖刺激と異常な増殖刺激を識別して、細胞増殖とがん化抑制を仕分ける機構が存在する。しかし、この仕分け機構の詳細は明らかになっていない。転写因子 E2F は、がん抑制因子 pRB の標的である。E2F は増殖刺激による pRB の生理的な不活性化によって活性化され、*cell division cycle 6 (Cdc6)* などの増殖関連遺伝子の発現を誘導することで細胞増殖に中心的な役割を果たす。一方 E2F は、代表的ながん性変化である pRB の機能不全によって pRB の制御を外れて活性化されると、がん抑制因子 p53 の活性化に関わる *alternative reading frame (ARF)* などのがん抑制遺伝子も発現誘導し、がん化抑制に重要な役割を果たす。先行研究において増殖刺激によって生理的に活性化された E2F は ARF などのがん抑制遺伝子は発現誘導しないことが見出された。従ってがん性変化に伴って増殖刺激の際とは異なる活性をもった E2F が生じると考えられる。これらの機能的に異なる E2F が細胞増殖とがん化抑制を仕分けていると考えられるが、E2F による細胞増殖とがん化抑制に関わる標的遺伝子発現誘導の仕分け機構は不明である。E2F1 は、E2F ファミリーの中でもがん抑制遺伝子の転写活性化能が最も強いことが知られている。先行研究において、E2F1 の DNA 結合領域及び転写活性化領域外の N 末端領域を欠失すると、Cdc6 プロモーター活性化能に大きな変化がなかったが、ARF プロモーターの活性化能が著明に減少した。この知見より、E2F1 ががん抑制遺伝子を活性化する際には増殖関連遺伝子の際とは異なる因子と相互作用する可能性が考えられた。そこで、過剰発現した E2F1 を免疫沈降した際に共沈してくる因子を質量解析を用いて同定することにより、E2F1 の新規相互作用因子を探索した。その結果、DEAD box ファミリーメンバーの 1 つである DEAD box 5 (DDX5) を同定した。近年 DDX5 は転写因子のコファクターとして機能することが報告された。そこで DDX5 発現ベクターを作製し E2F1 による標的プロモーターの活性化に及ぼす作用をレポーターアッセイで解析した。その結果、ヒト正常線維芽細胞とがん細胞株において ARF プロモーターの活性化の増強が認められた。しかし、Cdc6 プロモーターは E2F1 と DDX5 を共発現させても E2F1 を単独で発現させた時に比べて活性化の増強が認められなかった。以上から、DDX5 はがん抑制遺伝子のプロモーターの活性化を増強しうる可能性が示唆された。さらに DDX5 は E2F1 と相互作用し、特定の乳がん細胞株において増殖関連遺伝子の発現も増強することがごく最近報告された。従って、DDX5 は細胞環境によって活性化する標的遺伝子が異なる可能性が示唆される。